

С. Ю. Данильченко, С. М. Коваленко*, С. М. Губарь, І. С. Жук*, І. О. Маріуца

Національний фармацевтичний університет

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: povstenko@gmail.com

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Розробка методів контролю якості на субстанцію 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)-піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4H)-ону

Мета роботи. Розробка проекту методів контролю якості на сполуку-лідера серед похідних [1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4H)-онів, а саме 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)-піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-(4H)-он як перспективний протималарійний засіб для подальших поглиблених досліджень.

Експериментальна частина. З урахуванням вимог загальної монографії «Субстанції для фармацевтичного застосування» запропоновано включення до проекту методів контролю якості таких показників як: опис, розчинність, ідентифікація за допомогою методів спектрофотометрії в УФ-області та ІЧ-області спектра, супровідні домішки (метод рідинної хроматографії), втрата в масі при висушуванні, сульфатна зола, залишкові кількості органічних розчинників, мікробіологічна чистота, кількісне визначення за допомогою потенціометричного титрування хлорною кислотою в оцтовій кислоті.

Висновки. Розроблені методики контролю якості сполуку-лідера – 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)-піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4H)-ону.

Ключові слова: методи контролю якості; якісне та кількісне визначення; похідні [1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4H)-онів; антимальарійна активність

S. Yu. Danylchenko, S. M. Kovalenko, S. M. Gubar, I. S. Zhuk, I. O. Mariutsa

Development of quality control methods for the substance 4-benzyl-1-{4-[4-(4-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-4-oxobutyl}[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5(4H)-one

Aim. To develop the project of quality control methods for the leader compound among derivatives of [1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5(4H)-ones, namely 4-benzyl-1-{4-[4-(4-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-4-oxobutyl}[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-(4H)-one as a promising antimalarial agent for further in-depth studies.

Experimental part. Taking into account the requirements of the general monograph "Substances for pharmaceutical use" it has been proposed to include the following indicators to the project of quality control methods: description, solubility, identification (using infrared and ultraviolet spectroscopy), related impurities (liquid chromatography method), the loss on drying, the residue on ignition, residual organic solvents, microbiological purity, assay by potentiometric titration with chloric acid in acetic acid.

Conclusions. The methods of quality control of a leader compound – 4-benzyl-1-{4-[4-(4-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl]-4-oxobutyl}[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-(4H)-one have been developed.

Key words: methods of quality control; qualitative and quantitative determination; derivatives of [1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5(4H)-ones; antimalarial activity

С. Ю. Данильченко, С. Н. Коваленко, С. Н. Губарь, И. С. Жук, И. А. Мариуца

Разработка методов контроля качества на субстанцию 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифенил)-пиперазин-1-ил]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хиназолин-5(4H)-она

Цель работы. Разработка проекта методов контроля качества на соединение-лидер среди производных [1,2,4]триазоло[4,3-а]хиназолин-5(4H)-онов, а именно 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифенил)-пиперазин-1-ил]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хиназолин-(4H)-он как перспективное противомаларийное средство для дальнейших углубленных исследований.

Экспериментальная часть. С учетом требований общей монографии «Субстанции для фармацевтического применения» предложено включение в проект методов контроля качества таких показателей как: описание, растворимость, идентификация с помощью методов спектрофотометрии в УФ-области и ИК-области спектра, сопутствующие примеси (метод жидкостной хроматографии), потеря в массе при высушивании, сульфатная зола, остаточное количество органических растворителей, микробиологическая чистота, количественное определение с помощью потенциометрического титрования хлорной кислотой в уксусной кислоте.

Выводы. Разработаны методики контроля качества соединения-лидера – 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифенил)-пиперазин-1-ил]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хиназолин-5(4H)-она.

Ключевые слова: методы контроля качества; качественное и количественное определение; производные [1,2,4]триазоло[4,3-а]хиназолин-5(4H)-онов; антимальарийная активность

Актуальною проблемою сучасної фармацевтичної хімії є створення оригінальних сполук, що мають виражені фармакологічні властивості та перспективу використання в якості лікарських субстанцій. На сьогодні лідируюче положення серед лікарських засобів та кандидатів у ліки посідають нітрогеновмісні гетероциклічні сполуки, що і привертає до них велику увагу дослідників хімічного та фармацевтичного профілю.

У цьому аспекті важливе значення мають похідні [1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4*H*)-онів, сучасні дослідження яких доводять перспективність цієї групи сполук як активних субстанцій з різноманітною біологічною активністю. Експериментальні дані скринінгового дослідження амідів ω -(5-оксо-4,5-дигідро[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-1-іл)карбонових кислот, синтез яких здійснено шляхом циклізації 2-гідразінохіназолін-4-онів за участю дигідрофуран-2,5-діону та дигідро-2Н-піран-2,6-(3*H*)-діону з утворенням ω -(5-оксо-4,5-дигідро[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-1-іл)карбонових кислот з подальшим синтезом бібліотеки їх амідів [1, 2], підтверджують перспективність цієї групи сполук з антипротозойною активністю, особливо по відношенню до *Plasmodium falciparum* [3-5]. Представник зазначеного ряду – 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)-піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4*H*)-он виявив найбільш помітну активність, що дозволяє розглядати його як перспективний протималарійний засіб для подальших поглиблених досліджень.

Одним із визначальних факторів ефективності та безпеки використання нових біологічно активних речовин (БАР) серед похідних [1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4*H*)-онів є розробка відповідних методів контролю якості (МКЯ) лікарського засобу, які встановлюють критерії до якісних і кількісних показників та їх допустимі межі. Основним правовим актом, що регламентує показники, за якими повинна контролюватися якість субстанції-лідера з перспективою подальшого фармацевтичного застосування, є Державна фармакопея України (ДФУ) [6].

Експериментальна частина

Згідно з вимогами ДФУ [6] до проекту МКЯ на субстанцію 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4*H*)-ону як АФІ пропонується включення наведених нижче показників.

Розділ «Опис». Досліджені зразки субстанції за візуальними показниками представляли собою дрібнокристалічний порошок майже білого кольору. На цій підставі розділ у проекті МКЯ пропонується ввести у редакції «Дрібнокристалічний порошок білого або майже білого кольору».

Розділ «Розчинність». Розчинність зразків субстанції розглядають як додаткову характеристику ідентифікації і чистоти субстанції [7, 8].

Фактичні експериментальні дані щодо розчинності зразків субстанції наведені у табл. 1. На підставі отриманих експериментальних даних роз-

Таблиця 1

Експериментальні дані щодо розчинності зразків субстанції

Розчинник	Дані щодо розчинності	Розчинність (за ДФУ)
Диметилформамід	100 мг тонко здрібненої на порошок субстанції зважують і поміщають у пробірку із пробкою, додають 0,1 мл розчинника – субстанція не розчинилася; у пробірку додають 0,9 мл розчинника – субстанція розчинилася	Легко розчинний
Диметилсульфоксид	100 мг тонко здрібненої на порошок субстанції зважують і поміщають у пробірку із пробкою, додають 0,1 мл розчинника – субстанція не розчинилася; у пробірку додають 0,9 мл розчинника – субстанція розчинилася	Легко розчинний
Етанол 96 %	10 мг тонко здрібненої на порошок субстанції поміщають у пробірку із пробкою, додають 10,0 мл розчинника – субстанція розчинилася	Мало розчинний
Метанол	10 мг тонко здрібненої на порошок субстанції поміщають у пробірку із пробкою, додають 10,0 мл розчинника – субстанція розчинилася	Мало розчинний
Вода	100 мг тонко здрібненої на порошок субстанції зважують і поміщають у пробірку із пробкою, додають 0,1 мл розчинника – субстанція не розчинилася; у пробірку додають 0,9 мл розчинника – субстанція не розчинилася; у пробірку додають 2,0 мл розчинника – субстанція не розчинилася; у пробірку додають 7,0 мл розчинника – субстанція не розчинилася; 10 мг тонко здрібненої на порошок субстанції поміщають у пробірку із пробкою, додають 10,0 мл розчинника – субстанція не розчинилася; 1 мг тонко здрібненої на порошок субстанції поміщають у пробірку із пробкою, додають 10,0 мл розчинника – субстанція не розчинилася	Практично не розчинний

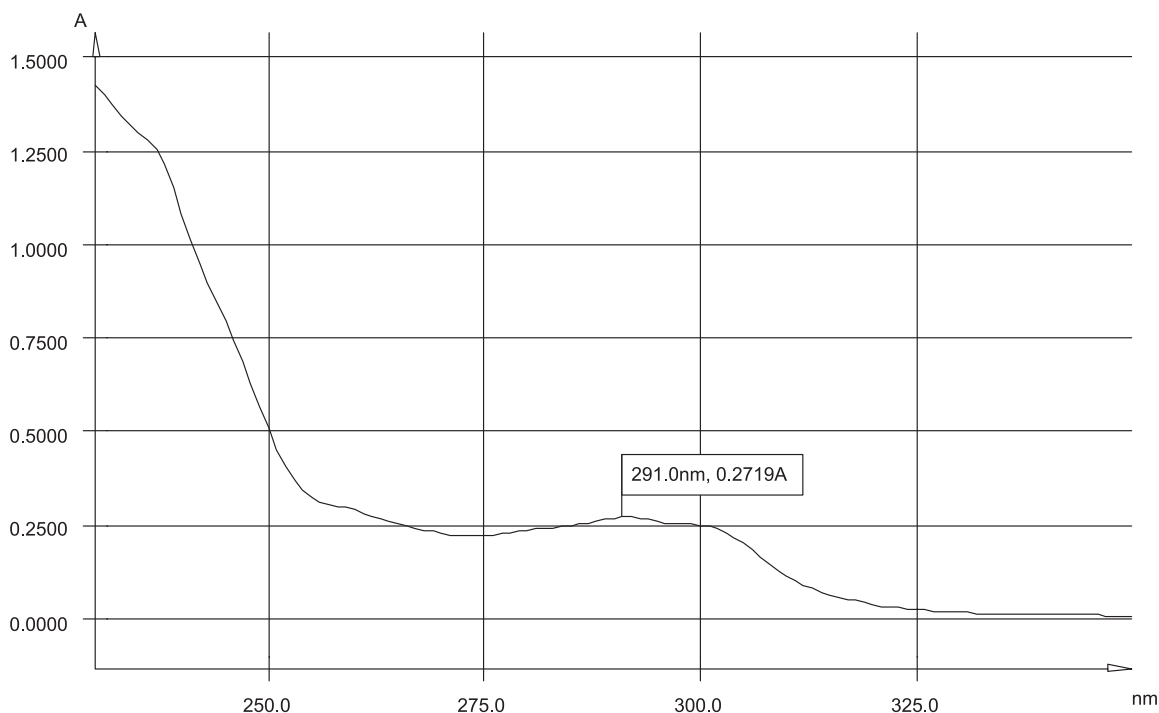


Рис. 1. УФ-спектр розчину зразка субстанції (0,04 мг/мл у метанолі)

діл пропонується ввести у проект МКЯ згідно з вимогами ДФУ, 5.11 у наступній редакції: «*Легко розчинний у диметилформаміді Р, у диметилсульфоксиді Р, малорозчинний у метанолі Р, у етанолі Р та практично не розчинний у воді Р*».

Розділ «Ідентифікація». Ідентифікацію 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4*H*)-ону запропоновано проводити за допомогою методів спектрофотометрії в УФ-області та ІЧ-області спектра.

Електронний спектр поглинання 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)-піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4*H*)-ону

вимірювався в області довжин хвиль від 230 до 350 нм. Максимум поглинання для розчину субстанції у метанолі складає 291 ± 2 нм (рис. 1).

Розділ «Ідентифікація» пропонується ввести до проекту МКЯ у редакції: «*УФ-спектр поглинання розчину субстанції в метанолі в області довжин хвиль від 230 до 350 нм повинен мати максимум за довжини хвилі 291 ± 2 нм*».

Крім того, для ідентифікації 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4*H*)-ону пропонується використання методу ІЧ-спектрометрії. ІЧ-спектр пропускання субстанції в диску з калію бромідом Р в області від 4000 cm^{-1} до 400 cm^{-1} наведено на рис. 2, 3.

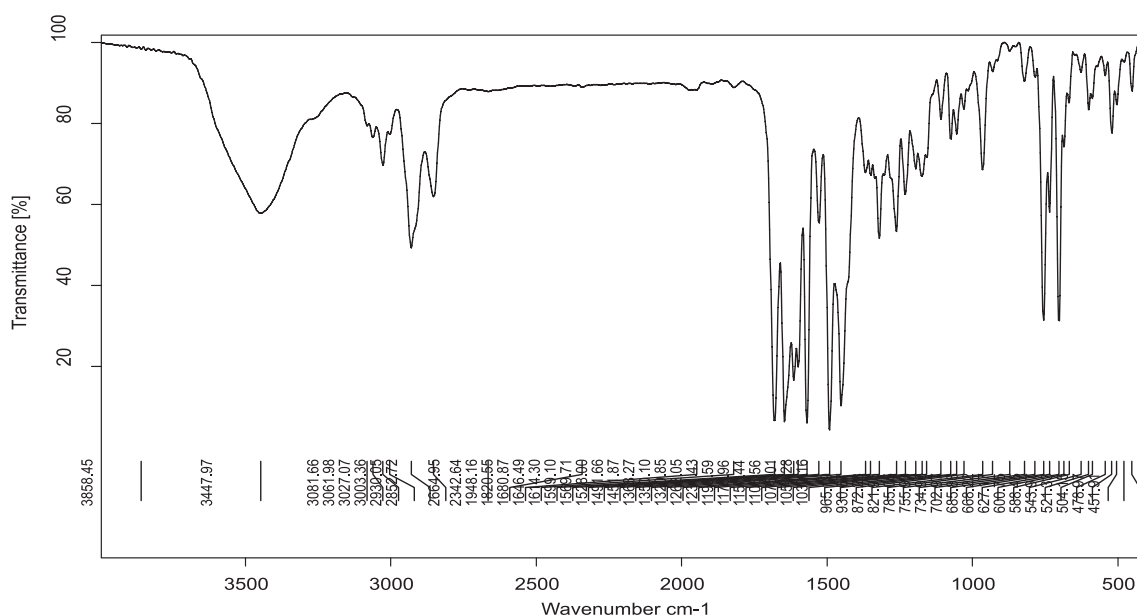


Рис. 2. ІЧ-спектр зразка субстанції в диску з калію бромідом Р (1 : 200) в інтервалі від 4000 cm^{-1} до 400 cm^{-1}

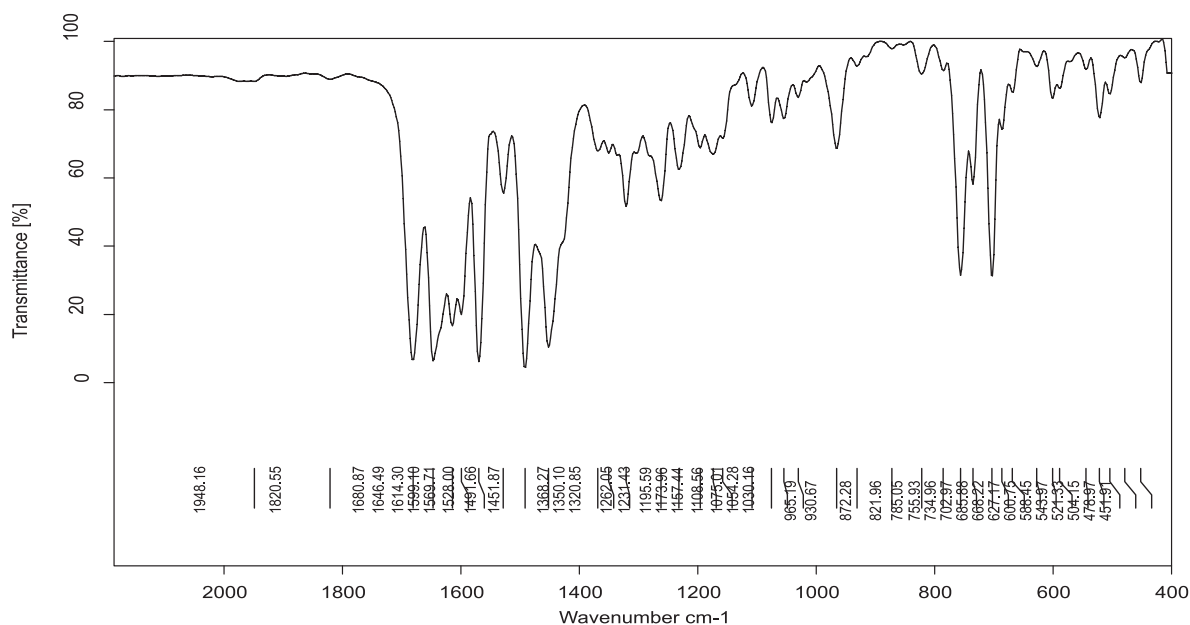


Рис. 3. ІЧ-спектр зразка субстанції в диску з калію бромідом Р (1 : 200) в інтервалі від 2200 см⁻¹ до 400 см⁻¹

ІЧ-спектр субстанції характеризується наявністю чітко виражених смуг валентних коливань $\nu(\text{C-H})$ як ароматичних, так і аліфатичних зв'язків при 3060, 2930 та 2850 см⁻¹. Характерні для хіназолінонового циклу валентні коливання $\nu(\text{C=O})$ проявляються інтенсивною смугою при 1680 см⁻¹. Характерні для амідної групи валентні коливання $\nu(\text{C=O})$ проявляються інтенсивною смугою при 1646 см⁻¹. Коливання зв'язків $\nu(\text{C=N})$ гетероциклу обумовлюють смуги меншої інтенсивності при 1600-1530 см⁻¹. Смуги коливань ароматичних та гетероароматичних зв'язків $\nu(\text{C=C})$ проявляються в області 1400-1610 см⁻¹. Розділ пропонується ввести до проекту МКЯ в наступній редакції: «ІЧ-спектр субстанції, одержаний в дисках з калію бромідом Р, має відповідати ІЧ-спектру, що наведений у МКЯ».

Розділ «Супровідні домішки». Визначення проводять методом рідинної хроматографії відповідно до вимог ДФУ, 2.2.29. Дане випробування контролює технологічні домішки, продукти розкладання [9]. У проекті МКЯ визначення вмісту домішок в субстанції запропоновано проводити методом ВЕРХ. Згідно з методикою синтезу в субстанції можуть бути присутні домішки, що наведено в табл. 2.

Необхідно було запропонувати умови, за яких відбувалося б найбільш повне розділення основної речовини та домішок за прийнятний час. При розробці методики були випробувані різні комбінації складу рухомої фази та рН середовища. Хроматографічне розділення проводили при градієнтному елююванні з використанням як рухомої фази А – води з додаванням 0,1 % трифлуороцтової кислоти, як рухомої фази В – ацетонітрилу з додаванням 0,1 % трифлуороцтової кислоти на колонці, заповненій силікагелем октадецилсиліль-

ним. У запропонованих хроматографічних умовах було досягнуто повне розділення компонентів модельної суміші основної речовини та домішок. На підставі отриманих експериментальних даних розділ пропонується ввести до проекту МКЯ в наступній редакції: «Супровідні домішки. Визначення проводять методом рідинної хроматографії відповідно до вимог ДФУ, 2.2.29».

Випробовуваний розчин. 50 мг (точна наважка) дослідної субстанції поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 50 мл ацетонітрилу Р та об'єм розчину доводять тим же розчинником до позначки, ретельно перемішують. Фільтрують крізь мембранний фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм.

Розчин порівняння (а). 1,0 мл випробовуваного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину ацетонітрилом Р до позначки.

Розчин порівняння (б). 1,0 мл розчину порівняння (б) поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину ацетонітрилом Р до позначки та перемішують.

Таблиця 2

Домішки

Домішка	Назва	Структурна формула
Домішка А (домішка синтезу)	4-(4-бензил-5-оксо-4,5-дигідро[1,2,4]-триазоло[4,3- <i>a</i>]-хіназолін-1-іл)-бутанова кислота	
Домішка В	–	(неідентифікована)

Таблиця 3

Умови хроматографування

Рідинний хроматограф Varian «ProStar» з діодно-матричним детектором	
Нерухома фаза	Колонка хроматографічна 150 × 4,6 мм заповнена <i>силікагелем октадецилсилільним для хроматографії P Symmetry® C18</i> із розміром часток 3,5 мкм
Рухома фаза А	0,1 % розчин <i>трифлуороцтової кислоти Р</i> у воді <i>Р</i>
Рухома фаза В	0,1 % розчин <i>трифлуороцтової кислоти Р</i> у <i>ацетонітрилі Р</i>
Швидкість потоку рухомої фази	1 мл/хв
Температура колонки	25 °С
Детектування	За довжини хвилі 220 нм
Об'єм інжекції	20 мкл

Таблиця 4

Градiєнтна програма хроматографування

Час хроматографування, хв	РФ А, %	РФ В, %
0-5	90	10
5-15	90→20	10→80
15-25	20	80
25-30	20→90	80→10
30-35	90	10

Розчин порівняння домішки А. 10 мг *домішки А* поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, розчиняють в 1 мл *диметилформаміду Р* до повного розчинення, доводять об'єм розчину *ацетонітрилом Р* до позначки та перемішують.

Розчин для перевірки придатності хроматографічної системи. 2 мл випробовуваного розчину та 2 мл розчину порівняння домішки А поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки та перемішують. Усі розчини використовують свіжо-приготовленими (табл. 3, 4).

Хроматографують розчинник (бланк-хроматограма), розчин для перевірки придатності хромато-

графічної системи. Для ідентифікації домішок використовують хроматограму розчину для перевірки придатності хроматографічної системи. Відносні часи утримування (час утримування основної речовини – близько 17,5 хв). Час утримання домішки А – 14,2 хв (0,81). Хроматографують розчин порівняння (**б**), розчин порівняння (**а**) та випробовуваний розчин не менше 3 разів. Хроматографічна система вважається придатною, якщо коефіцієнт симетрії основного піку є не менше 0,8 і не більше 1,5; відносне стандартне відхилення (RSD, %), розраховане для площі основного піку повторних хроматограм, не повинно перевищувати значення, зазначені у табл. 2.2.46.-2 [ДФУ 2.0] (табл. 5, 6).

Таблиця 5

Відносне стандартне відхилення

Кількість паралельних інжекцій	2	3	4	5	6	7	8
RSD, %	0,16	0,42	0,60	0,74	0,86	0,96	1,06

Таблиця 6

Нормування

Домішка А	Площа піку не має перевищувати 1,5 площі основного піку на хроматограмі <i>розчину порівняння (б)</i> (0,15 %)
Будь-яка інша домішка	Площа піку не має перевищувати 1,0 площі основного піку на хроматограмі <i>розчину порівняння (б)</i> (0,1 %)
Сума домішок	Сума площ усіх піків не має перевищувати 1,0 площі основного піку на хроматограмі <i>розчину порівняння (а)</i> (1,0 %)
Не враховують	Піки, площа яких становить менше 0,2 площі основного піку на хроматограмі <i>розчину порівняння (б)</i> (0,02 %). Також не враховують піки, які за часами утримування співпадають з відповідними піками на бланк-хроматограмі

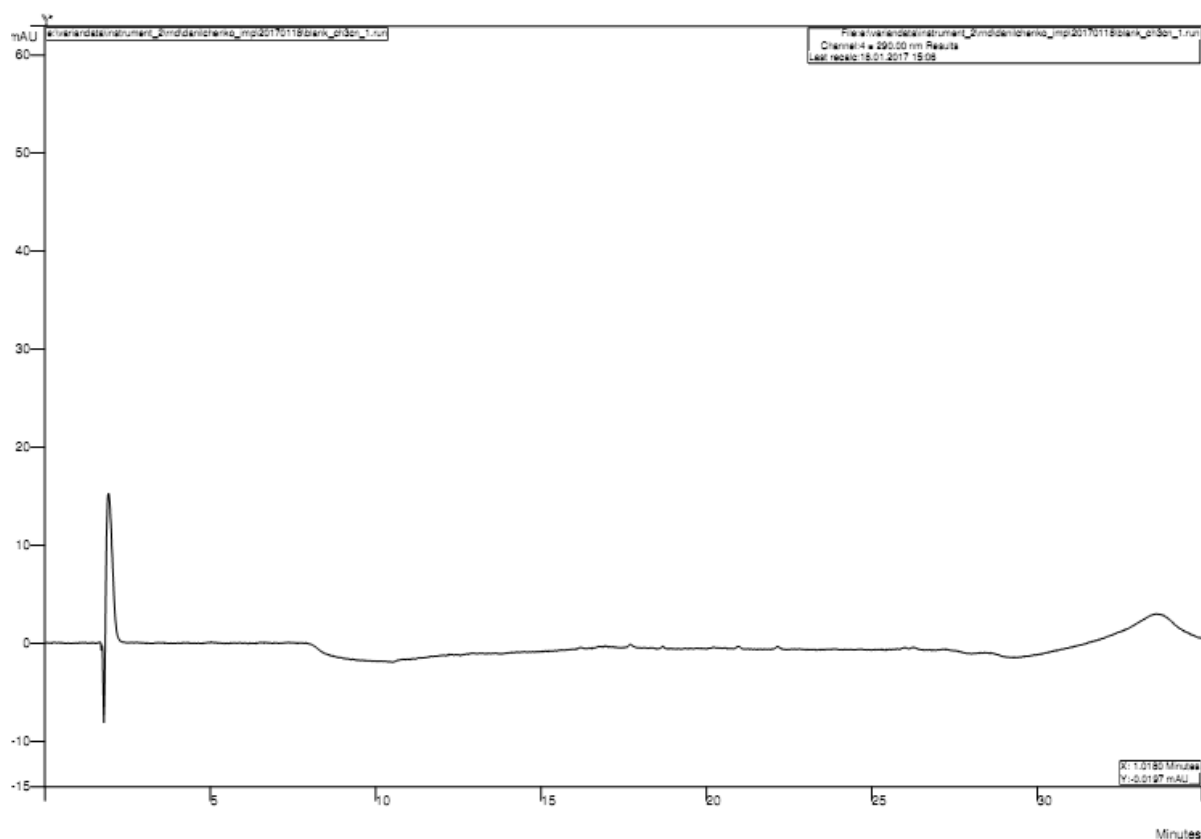


Рис. 4. Хроматограма розчинника (бланк-хроматограма) випробовуваного розчину

Хроматограми розчинника (рис. 4 та рис. 5) прописані за тих же умов і вказують на відсутність сторонніх піків, що відповідають відносному часу утримування основної речовини та зазначених до-

мішок. Порівняння хроматограм свідчить, що в умовах методики визначення домішок не заважають ні розчинник, ні рухома фаза, ні основна речовина. Специфічність можна вважати доведеною.

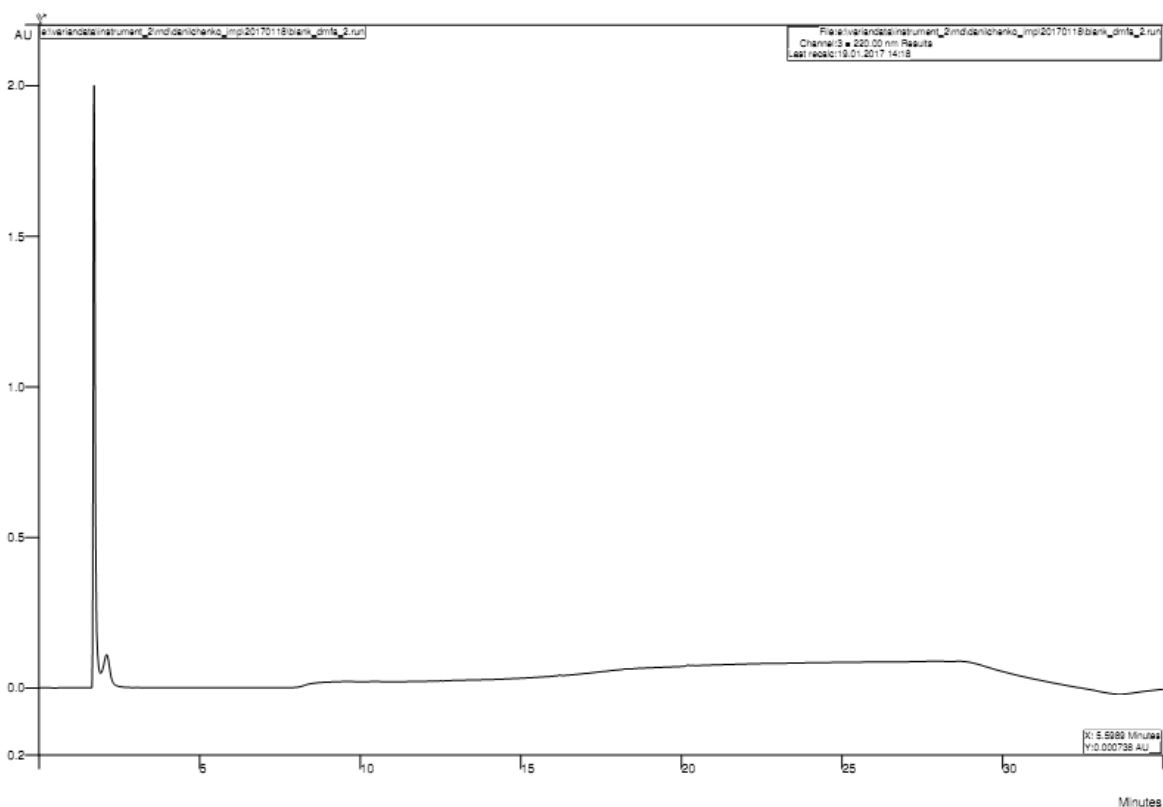


Рис. 5. Хроматограма розчинника (бланк-хроматограма) розчину для перевірки придатності хроматографічної системи

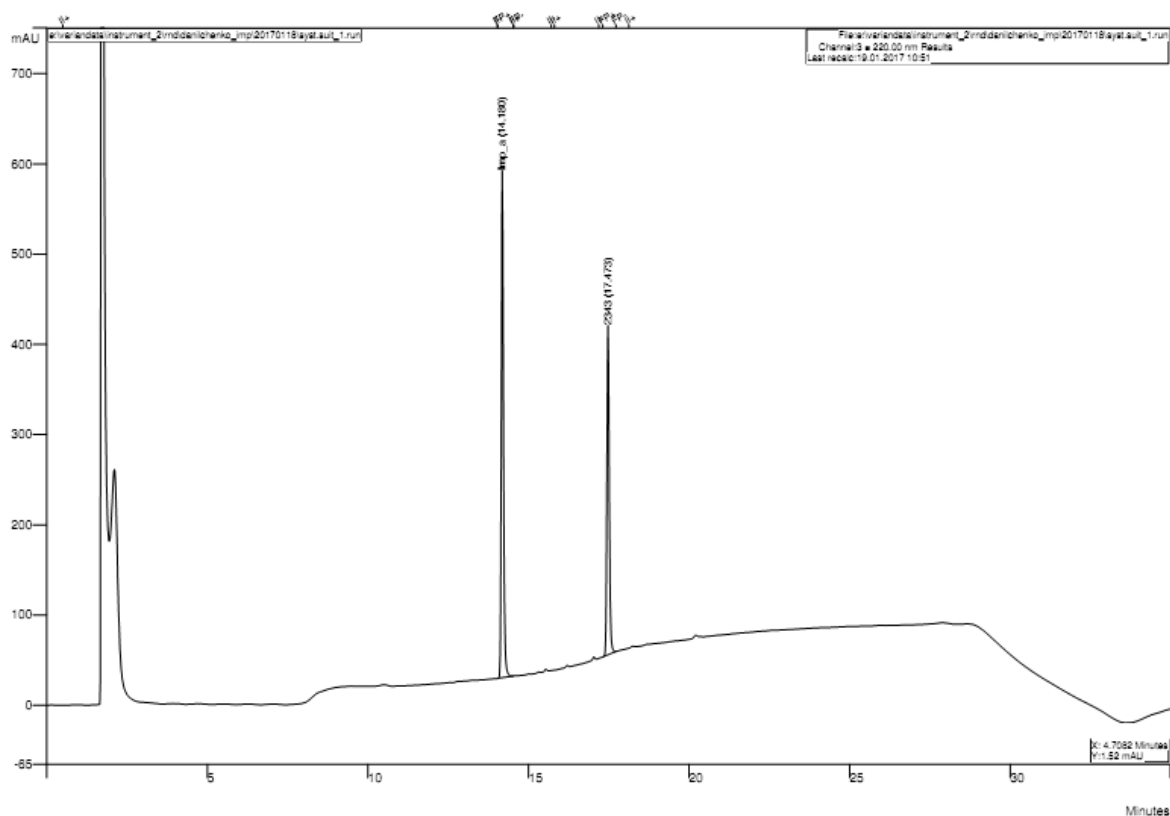


Рис. 6. Хроматограма розчину для перевірки придатності хроматографічної системи

Для ідентифікації домішок використовують хроматограму розчину для перевірки придатності хроматографічної системи (рис. 4). Відносні часи утримування (час утримування основної речови-

ни близько 17,5 хв – 1,00). Час утримування домішки А – 14,2 хв (0,81). На хроматограмі випробовуваного розчину (рис. 6-9) також було виявлено неідентифіковану домішку В, час утриму-

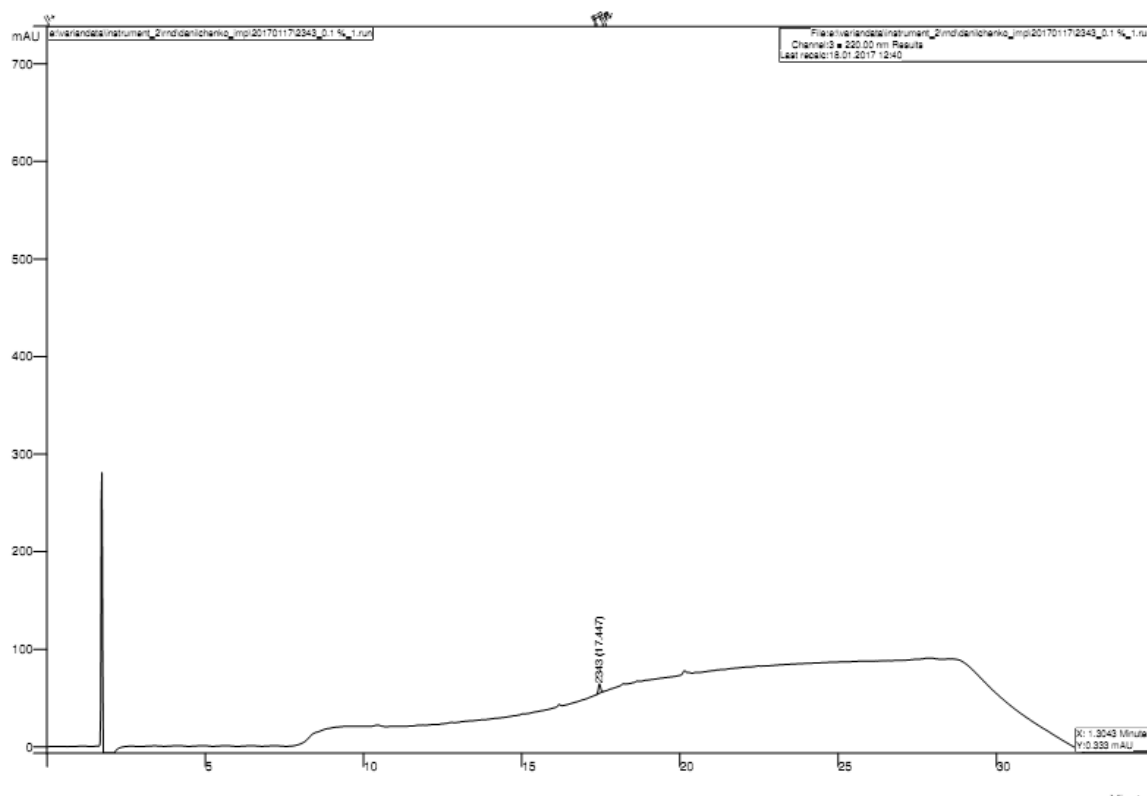


Рис. 7. Хроматограма розчину порівняння (b)

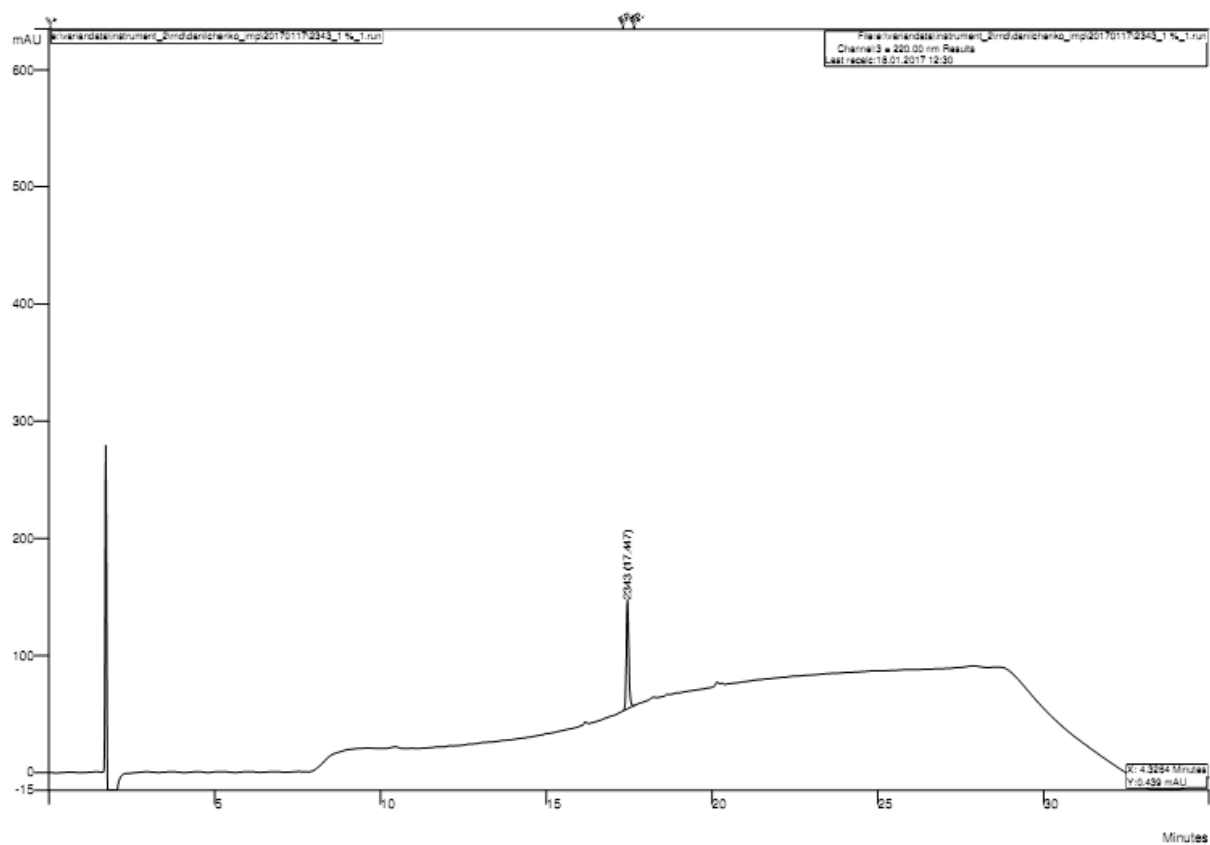


Рис. 8. Хроматограма розчину порівняння (а)

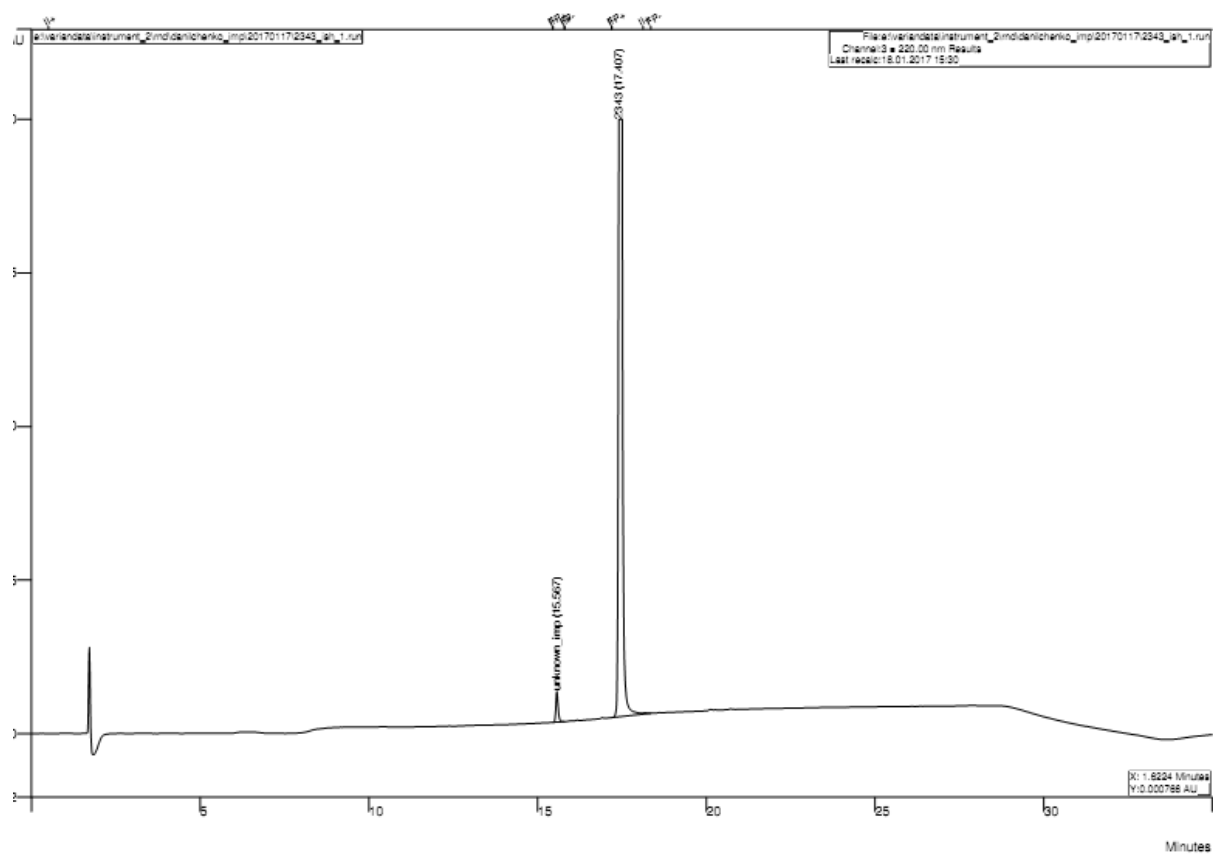


Рис. 9. Хроматограма випробовуваного розчину

Таблиця 7

Виконання вимог перевірки придатності хроматографічної системи

Параметр	Вимоги	Знайдено
Коефіцієнт симетрії основного піку повинен бути на хроматограмі розчину порівняння (b) та розчину порівняння (a)	Не менше 0,8 і не більше 1,5	1,17

вання якої становить близько 15,6 хв (0,89). Кількісно вміст супровідних домішок визначали відносно площ піків розчину порівняння (b) (рис. 7) та розчину порівняння (a) (рис. 8). Вимоги тесту для перевірки придатності хроматографічної системи наведені в табл. 7.

Коефіцієнт симетрії піку основної речовини відповідає вимогам придатності хроматографічної системи. Розрахунок кількісного вмісту домішок у субстанції наведена у табл. 8.

Відповідно до наведених даних можна зробити висновок, що вміст супровідних домішок у субстанції 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4*H*)-ону відповідає вимогам щодо регламентованих меж кількісного вмісту домішок. Таким чином, всі параметри відповідають необхідним критеріям прийнятності. Метод може бути використаний для визначення супровідних домішок у субстанції методом ВЕРХ.

Розділ «Втрата в масі при висушуванні». На підставі отриманих експериментальних даних втрата в масі при висушуванні субстанції складала 0,2-0,4 % (1,000 г субстанції сушать при температурі від 100 °C до 105 °C до постійної маси). У проект МКЯ введений показник «Втрата в масі при висушуванні», що проводиться у відповідності до вимог ДФУ, 2.2.32, *метод d*. Втрату в масі при висушуванні субстанції регламентовано на рівні, що не перевищує 0,5 %. Розділ пропонується ввести до проекту МКЯ у наступній редакції: «Не більше 0,5 %».

Розділ «Сульфатна зола». За фактичними експериментальними даними в дослідних зразках субстанції вміст сульфатної золи склав не більше 0,07-0,08 %. Розділ пропонується ввести до проекту МКЯ у наступній редакції: «Не більше 0,1 %. Визначення проводять з 1,0 г субстанції» (ДФУ, 2.4.14).

Розділ «Залишкові кількості органічних розчинників». Відповідно до вимог ДФУ, 5.4 «Усі субстанції та готові лікарські засоби мають перевірятися на вміст тих розчинників, які можуть бути присутніми в них».

Оскільки при отриманні субстанції заключною стадією є промивання спиртом етиловим 96 %, в тесті доцільно контролювати лише етанол. Згідно з ДФУ, 5.4 етанол відноситься до розчинників 3 класу (малотоксичні розчинники), тому при нормуванні концентрації менше 5000 ppm для контролю його вмісту може бути застосоване випробування на втрату в масі при висушуванні.

Розділ «Мікробіологічна чистота». Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13. Для перевірки придатності методики випробування на загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів використовуються наступні тест-мікроорганізми: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Критерії прийнятності мікробіологічної чистоти нестерильних субстанцій для фармацевтичного використання визначені у ДФУ, 5.1.4: загальне число аеробних мікроорганізмів: 10^3 КУО/г; загальне число дріжджових та плісневих грибів: 10^2 КУО/г. Розділ пропонується ввести до проекту МКЯ у наступній редакції: «Загальне число аеробних мікроорганізмів: 10^3 КУО/г. Загальне число дріжджових та плісневих грибів: 10^2 КУО/г».

Розділ «Кількісне визначення». Метод кислотно-основного титрування у неводних розчинниках застосовується для кількісного визначення речовин, що являють собою кислоти, основи або солі, титрування яких у воді утруднене або

Таблиця 8

Розрахунок кількісного вмісту домішок у субстанції

	Субстанція		Домішки	
	RSO A	RSO B	домішка A	неідентифікована домішка (домішка B)
Площі піків	2417624	242707	–	240499
	2418051	240717	–	240521
Середнє	2417838	241712	–	240510
% домішки	1,0	0,1	–	
Будь-яка інша домішка			Не виявлена	< 0,10 %
Сума домішок				0,10 %

Таблиця 9

Метрологічні характеристики розробленої методики кількісного визначення

$X_i, \%$	f	$X_{\text{ср}}$	S^2	S	$S_{\text{хср}}$	$P, \%$	$t(P, f)$	Δx	$\Delta x_{\text{ср}}$	$\varepsilon_{\text{ср}}, \%$
99,83	4	99,81	0,0080	0,08944	0,040	95	2,1318	0,1907	0,0853	0,0854
99,87										
99,75										
99,91										
99,69										

неможливе через слабкі кислотно-основні властивості або малу розчинність. У неводних розчинниках різко змінюються кислотно-основні властивості різних речовин. Застосування різних розчинників дозволяє управляти кислотно-основними властивостями речовин.

Для кількісного визначення дослідної сполуки запропоновано метод титрування у суміші *кислоти оцтової безводної і оцтового ангідриду 0,1 М розчином кислоти хлорної* потенціометрично.

При титруванні будували графік залежності зміни різниці потенціалів від кількості доданого титранту, продовжуючи додавати титрант понад передбачувану точку еквівалентності. Кінцева точка відповідає різкій зміні різниці потенціалів. При розробці цього розділу за основу були взяті вимоги ДФУ розділу 2.2.20 «Потенціометричне титрування». Підбираючи різні умови для потенціометричного титрування при кількісному визначенні 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4H)-ону були отримані збіжність та відтворюваність результатів експерименту.

Методика: 0,300 г субстанції розчиняють у суміші 30 мл *кислоти оцтової безводної Р* і 30 мл *оцтового ангідриду Р* і титрують *0,1 М розчином кислоти хлорної* потенціометрично (ДФУ, 2.2.20).

1 мл *0,1 М розчину кислоти хлорної* відповідає 53,66 мг $C_{31}H_{32}N_6O_3$.

Вміст $C_{31}H_{32}N_6O_3$ в субстанції, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0,05366 \cdot K \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: V – об'єм *0,1 М розчину кислоти хлорної*, витрачений на титрування випробовуваного розчину, мл;

K – коефіцієнт поправки до молярності титранту; *0,05366* – кількість грамів $C_{31}H_{32}N_6O_3$, що відповідає 1 мл *0,1 М розчину кислоти хлорної*; m – маса наважки субстанції, г; W – значення втрати в масі при висушуванні субстанції, %.

Проводять не менше трьох визначень паралельно. Приймають середнє значення вмісту $C_{31}H_{32}N_6O_3$ за результат. Вміст $C_{31}H_{32}N_6O_3$ – від 99,0 % до 101,0 % у перерахунку на суху речовину. Розділ пропонується ввести до проекту МКЯ у наступній редакції: «Не менше 99,0 % і не більше 101,0 % ($C_{31}H_{32}N_6O_3$) у перерахунку на суху речовину» (табл. 9).

Висновки

Здійснено підтвердження якості субстанції 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4H)-ону відповідно до вимог ДФУ за допомогою аналітичних методик якісного та кількісного визначення. З урахуванням вимог загальної монографії «Субстанції для фармацевтичного застосування» запропоновано включення таких показників якості як: опис, розчинність, ідентифікація за допомогою методів спектрофотометрії в УФ-області та ІЧ-області спектра, супровідні домішки (метод рідинної хроматографії), втрата в масі при висушуванні, сульфатна зола, залишкові кількості органічних розчинників, мікробіологічна чистота, кількісне визначення за допомогою потенціометричного титрування хлорною кислотою в оцтовій кислоті. З урахуванням отриманих експериментальних даних розроблено проект методів контролю якості лікарського засобу на субстанцію 4-бензил-1-{4-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-4-оксобутил}[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4H)-ону.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Перелік використаних джерел інформації

- Данильченко, С. Ю. Синтез заміщених 2-гідразинохіназолін-4-онів як інтермедіаторів для синтезу гетероциклічних сполук / С. Ю. Данильченко, О. Г. Друшляк, С. М. Коваленко // ЖОФХ. – 2014. – Т. 3 (47), № 12. – С. 66–73.
- Пат. 106344 Україна, МПК С 07 D 239/72 (2006.01). Похідні [1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4H)-онів / Данильченко С. Ю., Друшляк О. Г., Коваленко С. М., Коваленко С. С. – № u201509803 ; заявл. 09.10.2015 ; опубл. 25.04.2016. – Бюл. № 8. – 29 с.
- [1,2,4]Triazolo[4,3-a]quinazolin-5-one derivatives as antimalarial agents / S. Yu. Danylchenko, S. S. Kovalenko, O. G. Drushlyak et al. // УБФЖ. – 2016. – Vol. 1, Issue 42. – P. 78–83. doi: 10.24959/ubphj.16.16
- [1,2,4]Triazolo[4,3-a]quinazolin-5-one derivatives as antimalarial agents / S. Yu. Danylchenko, S. S. Kovalenko, S. M. Kovalenko et al. // Нові досягнення у галузі медичних та фармацевтичних наук : матер. Міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 20–21 листопада 2015 р. – Одеса : Південна фундаментальна медицина, 2015. – С. 13–15.

5. New nitrogen-containing heterocycles as antimalarial agents / S. Yu. Danylchenko, V. R. Karpina, S. S. Kovalenko et al. // The International Society for Neglected Tropical Diseases (London, May 25–26, 2016) / ISNTD d³ 2016 Research Handbook. – 26 p.
6. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : PIPEГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – 520 с.
7. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х. : Науково-експертний фармакопейний центр, 2008. – 620 с.
8. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : PIPEГ, 2001. – 556 с.
9. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доп. 3. – Х. : Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів, 2009. – 280 с.

References

1. Danylchenko, S. Yu., Drushliak, O. H., Kovalenko, S. M. (2014). *Zhurnal orhanichnoi ta farmatsevtichnoi khimii*, 12,(3 (47)), 66–73.
2. Danylchenko, S. Yu., Drushliak O. H., Kovalenko, S. M., Kovalenko, S. S. (2016). *Patent 106344 Ukraine, MPK C07D 239/72 (2006.01). Pokhidni [1,2,4]triazolo[4,3-a]khinazolin-5(4H)-oniv*. № u201509803; declared 09.10.2015; published 25.04.2016, 8, 29.
3. Danylchenko, S. Y., Kovalenko, S. S., Drushlyak, O. G., Kovalenko, S. M., Maes, L. (2016). [1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5-one derivatives as antimalarial agents. *Ukrains'kij Biofarmacevtichnij Zhurnal*, 1 (42), 78–83. doi: 10.24959/ubphj.16.16
4. Danylchenko, S. Yu., Kovalenko, S. S., Kovalenko, S. M. et al. (2015). *Novi dosiahnennia haluzi medychnykh ta farmatsevtichnykh nauk*. Odesa, 13–15.
5. Danylchenko, S. Yu., Karpina, V. R., Kovalenko, S. S. et al. (2016). *New nitrogen-containing heterocycles as antimalarial agents*. London, 26.
6. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy*, 1st Ed., dop. 1. (2001). Kharkiv: RIREH, 520.
7. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy*, 1st Ed., dop. 2. (2008). Kharkiv: Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr, 620.
8. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy*, 1st Ed. (2001). Kharkiv: RIREH, 556.
9. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy*, 1st Ed., dop. 3. (2009). Kharkiv: Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv, 280.

Надійшла до редакції 22.04.2018 р.